

氏名	Dirk Schenke
授与した学位	博士
専攻分野の名称	学術
学位授与番号	博甲第2753号
学位授与の日付	平成16年 3月25日
学位授与の要件	自然科学研究科エネルギー転換科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	STUDIES ON THE ABC TRANSPORTER <i>NtPDR1</i> AND ETHYLENE BIOSYNTHESIS BY TOBACCO BY-2 CELL CULTURES IN RESPONSE TO INF1 ELICITIN (タバコ BY-2 培養細胞の INF1 エリシチン応答性エチレン生合成 並びに ABC トランスポーター <i>NtPDR1</i> の研究)
論文審査委員	教授 一瀬 勇規 教授 白石 友紀 教授 稲葉 昭次

学位論文内容の要旨

I characterized the genomic DNA from the Pleiotropic Drug Resistance type ATP binding cassette transporter *NtPDR1* and identified a second copy *NtPDR2*. Both copies were assigned to the *Nicotiana tabacum* ancestors, *N. sylvestris* and *N. tomentosiformis* respectively. The *in silico* promoter analysis revealed several putative pathogenesis related cis-elements (GCC box, W-boxes and several elicitor and/or jasmonate responsive elements). Furthermore *NtPDR1* contained two miniature inverted repeat transposable elements (MITE) in its introns, which have been characterized and one of which was shown to be a novel MITE in dicotyledonous plants. Because I found a highly conserved ethylene (ET)-responsive *cis*-element (GCC box) in the *NtPDR1* promoter I examined the effects of ET or the ET precursor 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) on *NtPDR1* mRNA accumulation. However, ET or ACC alone is not sufficient to induce *NtPDR1* expression. Furthermore I found that SHAM, niflumix acid, AOPP, CHX and DDC prevented elicitor-induced ET production and cell death. I observed ET production in an *in vitro* experiment, when mixing an $O_2^{\bullet -}$ generating chemical (KO_2) together with ACC and I showed that $O_2^{\bullet -}$ could also rescue the SHAM-mediated inhibition of ET production. These results indicate that the oxidative burst is involved in ET production.

論文審査結果の要旨

本論文は、植物の病原菌に対する防御応答を解析したものである。過敏感細胞死を含む激しい防御応答を誘導するエリシターをタバコ培養細胞BY-2に処理すると、ABCトランスポーター遺伝子*NtPDR1*の発現が誘導される。本研究では*NtPDR1*の構造解析を行うと共に、エリシターによるエチレン生合成の制御機構を解析した。その結果、イントロンにはminiature inverted-repeat transposable elements (MITEs)と呼ばれる転位因子が存在していることなどを見出した。*NtPDR1*のMITEsは一つがイントロン1に存在する*Toya* elementで、もう一つがイントロン5に存在する*Stowaway* elementである。本研究により双子葉植物における*Toya*の存在が初めて明らかにされている。また、タバコ*Nicotiana tabacum*は複2倍体植物であるが、*NtPDR1*はタバコの祖先種の一つ*N. sylvestris*から由来すること、*NtPDR1*と非常に高い相同性を示す*NtPDR2*はタバコのもう一つの祖先種である*N. tomentosiformis*に由来することが、イントロンに存在するMITEsを指標にするなどして明らかにされた。*NtPDR1*のプロモーターにはエチレンに応答することが予想される推定のシスエレメントが存在していた。しかしながら、エチレン単独では*NtPDR1*の遺伝子発現を誘導せず、本遺伝子の発現誘導にはエリシター処理による少なくともエチレン以外のシグナルが必要であると推測された。一方、エリシターの処理によりエチレンは生成される。様々なシグナル伝達阻害剤、エチレン合成阻害剤などを用いた実験系よりエリシターによるエチレンの生成には(1)de novoなタンパク質合成とその結果蓄積されるエチレンの前駆体アミノシクロプロパンカルボン酸(ACC)と(2)低濃度のサリチル酸が必要であることが明らかとなった。また、(1) in vitroでACCと共にO²の生成試薬を構造させるとエチレンが生成されること、(2) 活性酸素生成の阻害剤をエリシターと同時に処理するとエチレン生成が阻害されることからエリシターによるエチレン生成には活性酸素ラジカルが必要であることを明らかにした。これらの結果は、エリシターによる防御応答シグナル伝達経路において新規な知見をもたらしたものとして高く評価できるものである。以上のことから、本論文は博士(学術)に値する論文であると判断した。